

SEROPREVALENSI *LEPTOSPIRA* PADA *RATTUS NORVEGICUS* DAN *RATTUS TANEZUMI* BERDASARKAN JENIS KELAMIN DAN UMUR

Arief Mulyono✉, Ristiyanto, Farida Dwi H, Dimas Bagus WP, Esti Rahardianingtyas

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit Salatiga

Jl. Hasanudin No.123 Salatiga, Jawa Tengah, Indonesia 50721

Email: arief_m@litbang.depkes.go.id

SEROPREVALENCE OF LEPTOSPIRA IN RATTUS NORVEGICUS AND RATTUS TANEZUMI BASED ON SEX AND AGE

Naskah masuk : 09 Februari 2015, Revisi 1 : 03 Maret 2015 , Revisi 2: 02 April 2015, Naskah diterima : 30 Mei 2015

Abstrak

Tikus adalah inang karier alamiah utama yang paling berpotensi menularkan leptospirosis ke manusia. Dua jenis tikus domestik yang tersebar di seluruh dunia dan berhubungan dengan infeksi Leptospira yaitu; Rattus norvegicus dan Rattus tanezumi. Penelitian ini bertujuan untuk melihat seroprevalensi Leptospira pada R. norvegicus dan R. tanezumi berdasarkan jenis kelamin dan umur. Metode penelitian dengan melakukan penangkapan tikus di daerah pemukiman Kelurahan Miroto, Kota Semarang dan Desa Tridonorejo, Kabupaten Demak. Pemeriksaan serologi dengan menggunakan LeptoTek Dri-Dot. Penentuan umur tikus menggunakan berat lensa mata tikus. Hasil penelitian menunjukkan seroprevalensi Leptospira pada R. norvegicus 66,67%, R. tanezumi 24,39%. Seroprevalensi Leptospira pada R. norvegicus betina 71,43%, R. norvegicus jantan 60%. Seroprevalensi Leptospira pada R. tanezumi betina 21,43%, R. tanezumi jantan 30,77%. Seroprevalensi Leptospira pada R. norvegicus tertinggi ditemukan pada R. norvegicus yang berumur > 360 hari, sedangkan pada R. tanezumi seroprevalensi Leptospira tertinggi ditemukan pada R. tanezumi berumur 181 – 240 hari (6 – 8 bulan). Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa seroprevalensi Leptospira pada R. norvegicus betina lebih tinggi daripada pada R. norvegicus jantan. Seroprevalensi Leptospira pada R. tanezumi jantan lebih tinggi daripada R. tanezumi betina. Seroprevalensi Leptospira pada R. norvegicus dan R. tanezumi dewasa lebih tinggi daripada R. norvegicus dan R. tanezumi muda.

Kata Kunci: Seroprevalensi, Leptospira, R. norvegicus, R. tanezumi

Abstract

Rats are the main natural infectious host of leptospirosis to human. Rattus norvegicus (rats) and Rattus tanezumi (house mice) are two types of domestic rats that related with leptospira infection in the world. They are played the main role major leptospirosis transmission to human than others. This study aims to determine seroprevalence of Leptospira of R. norvegicus and R. tanezumi based of the sex and age. The method of study was trapping rats in the Miroto village (Semarang) and Tridonorejo village (Demak). LeptoTec Dri-Dot test has used after take blood of the rats intracardially and weight eye lens used to determinan age of the rats. The results showed seroprevalence of Leptospira in R. norvegicus were 66,67% and R. tanezumi were 24,39%. Seroprevalence of Leptospira in R. norvegicus females were 71,43% and R. norvegicus males were 60%. Seroprevalence of Leptospira in R. tanezumi females were 21,43% and R. tanezumi male were 30,77%. Based of age showed seroprevalence of Leptospira was highest in R. norvegicus and R.tanezumi adult than R. norvegicus and R. tanezumi young.

Keywords: Seroprevalence, Leptospira, R. norvegicus, R. tanezumi

PENDAHULUAN

Leptospirosis merupakan penyakit yang tersebar luas di hampir seluruh dunia, terutama di daerah tropis dan subtropis (Vijayachari et al., 2008). Angka kematian yang diakibatkan leptospirosis cukup tinggi yaitu berkisar 5-40% (Bharti et al., 2003). Tingginya angka kematian tersebut disebabkan keterlambatan penanganan dan kesalahan diagnosis (Zitek dan Benes, 2005). Penularan dari hewan ke manusia melalui kontak langsung dengan urin atau cairan tubuh dari hewan yang terinfeksi atau tidak langsung melalui kontak dengan lingkungan tercemar *Leptospira* (Adler, 2009).

Menurut Valverde et al. (2008) saat ini telah teridentifikasi 300 serovar *Leptospira* dan setiap serovar mempunyai inang alamiahnya. Tucunduva et al. (2007) menyatakan bahwa tikus adalah inang karier alamiah utama dalam daur penularan leptospirosis ke manusia. Antibodi *anti-Leptospira* yang berhasil dideteksi pada tikus pada populasinya cukup tinggi berkisar 29,46% sampai 48%. Hal ini menunjukkan bahwa tikus berperan dalam penjangkauan *Leptospira* di alam dan sebagai sumber penularan leptospirosis di antara mamalia lain dan juga ke manusia (Simanjuntak et al. 1986).

Dua jenis tikus domestik yang tersebar di seluruh dunia dan berhubungan dengan infeksi *Leptospira* yaitu; *Rattus norvegicus* (tikus got), dan *Rattus tanezumi* (tikus rumah). Sebagai hewan domestik kedua jenis tikus tersebut memainkan peran utama penularan leptospirosis ke manusia bila dibandingkan dengan jenis tikus yang lain. WHO (2003), menyatakan bahwa keberadaan tikus domestik seperti *R. norvegicus* dan *R. tanezumi* di dalam lingkungan perumahan merupakan faktor resiko terjadinya penularan leptospirosis ke manusia. Mengingat peran penting *R. norvegicus* dan *R. tanezumi* dalam penularan leptospirosis maka diperlukan penelitian tentang seroprevalensi *Leptospira* pada kedua jenis tikus domestik tersebut berdasarkan umur dan jenis kelamin. Hal ini terkait dengan kebijakan pengendalian reservoir leptospirosis dan juga untuk sistem kewaspadaan dini terjadinya penularan leptospirosis ke manusia.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Mei sampai Juni 2008 di Kelurahan Miroto, Kota Semarang dan Desa Tridonorejo, Kabupaten Demak.

Cara Penangkapan Tikus

Penangkapan tikus dilakukan dengan menggunakan 100 perangkap tikus (*live trap*) selama 2 hari berturut-turut di setiap lokasi penelitian selama pelaksanaan penelitian. Penangkapan tikus dilakukan dengan memasang perangkap pada sore hari mulai pukul 16.00 WIB dan diambil keesokan harinya antara pukul 06.00 – 09.00 WIB. Penangkapan di dalam rumah menggunakan 2 buah perangkap dengan diletakkan di dapur atau kamar, atau tempat yang diperkirakan sering dikunjungi tikus. Jumlah rumah yang dipasang perangkap sebanyak 25 rumah. Penangkapan tikus di luar rumah/kebun menggunakan 50 perangkap. Tiap area seluas lebih kurang 10 m² dipasang 1 perangkap. Umpan yang digunakan adalah kelapa bakar, umpan tersebut diganti 2 hari sekali. Tikus yang tertangkap segera dimasukkan ke dalam kantong kain dan dibawa ke laboratorium lapangan.

Pengambilan Serum Darah

Sebelum diambil darahnya tikus dianestesi terlebih dahulu menggunakan ketamin HCl dengan dosis 50-100 mg/kg berat badan. Anestesi diberikan secara intramuskular dengan syringe needle 21 G. Setelah tikus pingsan, kapas beralkohol 70 % dioleskan di bagian dada selanjutnya jarum suntik ditusukkan di bawah tulang rusuk sampai masuk lebih kurang 50 – 75% panjang jarum. Posisi jarum membentuk sudut 45° terhadap badan tikus dengan posisi tegak lurus. Setelah posisi jarum tepat mengenai jantung, secara hati-hati darah dihisap sampai alat suntik terisi penuh. Darah dalam alat suntik dimasukkan dalam *venoject* dan disentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Serum yang terpisah diambil dengan pipet pasteur dan dimasukkan dalam vial tube selanjutnya disimpan pada suhu 4°C.

Pemeriksaan Serologi

Pemeriksaan serologi dengan LeptoTek Dri-Dot dilakukan dengan mengambil serum sebanyak 10 µl

menggunakan mikropipet kemudian diteteskan pada kertas LeptoTek Dri-Dot tepat pada lingkaran biru. Selanjutnya diratakan sampai menutupi lingkaran biru dengan menggunakan spatula dan didiamkan selama 30 detik. Interpretasi hasil test; Serum darah dinyatakan positif mengandung bakteri *Leptospira* jika terjadi agglutinasi partikel pada antigen *Leptospira*.

Estimasi Umur Tikus

Tikus yang telah mati diambil bola matanya. Bola mata tikus tersebut dikeringkan dalam inkubator selama 48 jam pada suhu 80°C. Setelah kering lensa mata didinginkan dalam desikator dan ditimbang dengan timbangan digital. Maksimal perbedaan berat lensa mata kanan dan kiri 0,1 mg. Jika perbedaannya lebih dari 0,1 mg maka tidak bisa digunakan untuk menentukan estimasi umur (Lord, 1959).

Analisis hasil

Estimasi umur tikus got, *R. norvegicus* menggunakan rumus $\log 10 (\text{umur} + 22 \text{ days}) = 1,313 + (0,021 X)$, $X =$ berat sepasang lensa mata (Hardy et al., 1983). Estimasi umur tikus rumah, *R. tanezumi* menggunakan rumus $\log Y = 1,02 + 0,023 X$, $Y =$ Umur tikus, $X =$ Berat sepasang lensa mata (Tanikawa, 1993). Prevalensi tikus dihitung dengan membagi jumlah tikus yang seropositif *Leptospira* dengan jumlah tikus yang tertangkap. Seroprevalensi *Leptospira* pada *R. norvegicus* dihitung dengan membagi *R. norvegicus* positif secara serologi dengan jumlah *R. norvegicus* yang tertangkap. Rumus tersebut berlaku pula untuk *R. tanezumi*.

HASIL

a. *Rattus norvegicus* dan *Rattus tanezumi* yang tertangkap dan hasil pemeriksaan serologi.

Seropositif *Leptospira* diantara dua jenis tikus domestik yang tertangkap tertinggi ditemukan pada *R. norvegicus* dari 24 yang tertangkap 15 positif. Sedangkan pada *R. tanezumi* dari 41 yang tertangkap 10 positif. Besarnya seroprevalensi *Leptospira* pada *R. norvegicus* dan *R. tanezumi* disajikan dalam Tabel 1.

b. Seroprevalensi *Leptospira* pada *R. norvegicus* dan *R. tanezumi* berdasarkan jenis kelamin

Berdasarkan jenis kelamin, seroprevalensi *Leptospira* pada *R. norvegicus* betina lebih tinggi (71,43%) dibandingkan dengan *R. norvegicus* jantan (60%) (Tabel 2).

Berbeda dengan *R. norvegicus* seroprevalensi *Leptospira* pada *R. tanezumi* jantan lebih tinggi (30,77%) bila dibandingkan dengan *R. tanezumi* betina (21,43%) (Tabel 3).

c. Estimasi umur *Rattus norvegicus* dan *Rattus tanezumi* seropositif *Leptospira*

Hasil estimasi umur *R. norvegicus* seropositif *Leptospira* disajikan dalam Tabel 4. Estimasi rata-rata umur *R. norvegicus* jantan seropositif *Leptospira* adalah 192 hari sedangkan pada *R. norvegicus* betina 208 hari.

Tabel 1. Jumlah *R. norvegicus* dan *R. tanezumi* tertangkap dan hasil pemeriksaan serologi

Jenis tikus	Tertangkap	Positif	(%)	Negatif	(%)
<i>Rattus norvegicus</i>	24	16	66,67	8	33,33
<i>Rattus tanezumi</i>	41	10	24,39	31	75,61

Tabel 2. Hasil pemeriksaan serologi *R. norvegicus* berdasarkan jenis kelamin

<i>Rattus norvegicus</i>	Tertangkap	Positif	(%)	Negatif	(%)
Jantan	10	6	60	4	40
Betina	14	10	71,43	4	28,57

Tabel 3. Hasil pemeriksaan serologi *R. tanezumi* berdasarkan jenis kelamin

Jenis tikus	Tertangkap	Positif	(%)	Negatif	(%)
Jantan	13	4	30,77	9	69,23
Betina	28	6	21,43	22	78,57

Tabel 4. Estimasi umur *R. norvegicus* seropositif *Leptospira*

No.	Berat lensa mata (mgr) <i>R. norvegicus</i> jantan	Estimasi umur (hari)	Berat lensa mata (mgr) <i>R. norvegicus</i> betina	Estimasi umur (hari)
1	19	51	25	69
2	32	97	33	101
3	42	157	44	173
4	48	209	50	231
5	54	280	55	294
6	59	356	58	340
7			60	374
8			61	393
9			61	393
10			63	433
Rata-rata	42,3	192	51	208

Estimasi umur *R. tanezumi* seropositif *Leptospira* disajikan dalam Tabel 5. Rata-rata umur *R. tanezumi* jantan seropositif *Leptospira* adalah 93 hari sedangkan pada *R. tanezumi* betina 226 hari.

360 hari sebesar 16,67% (gambar 1). Seroprevalensi *Leptospira* pada *R. norvegicus* jika didasarkan pada kategori muda dan dewasa maka seroprevalensi pada *R. norvegicus* dewasa lebih tinggi bila dibandingkan dengan

Tabel 5. Estimasi umur *R. tanezumi* seropositif *Leptospira*

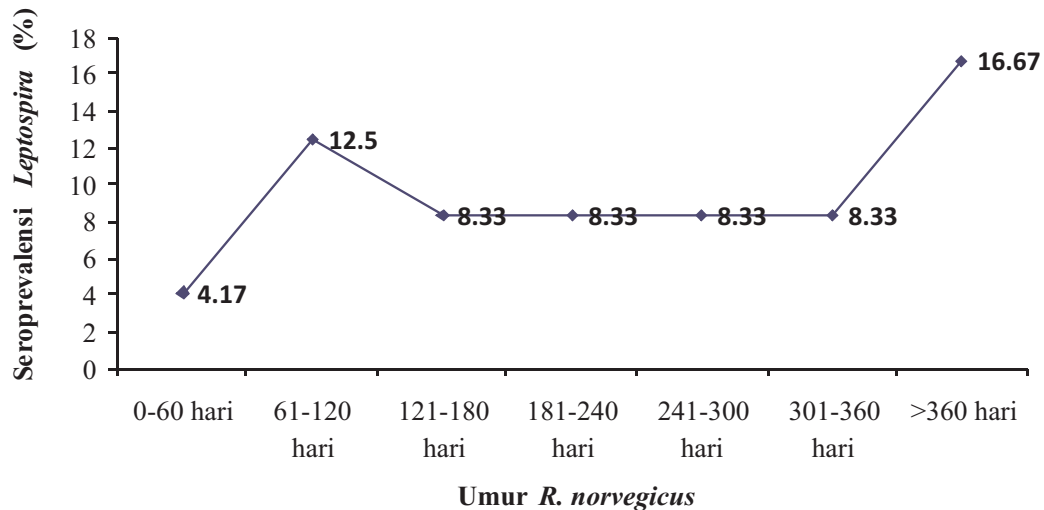
No.	Berat lensa mata (mgr) <i>R. tanezumi</i> jantan	Estimasi umur (hari)	Berat lensa mata (mgr) <i>R. tanezumi</i> betina	Estimasi umur (hari)
1	32	57	55	193
2	36	70	56	203
3	40	87	56	203
4	51	156	58	226
5			60	251
6			62	279
Rata-rata	39.75	93	57.83	226

d. Seroprevalensi *Leptospira* pada *Rattus*

norvegicus berdasarkan umur

Berdasarkan umur, seroprevalensi *Leptospira* pada *R. norvegicus* tertinggi ditemukan pada umur lebih dari

R. norvegicus muda. *Rattus norvegicus* dikategorikan muda jika berumur kurang dari 75 hari, dewasa jika lebih dari 75 hari (Brooks dan Rowe, 1987).



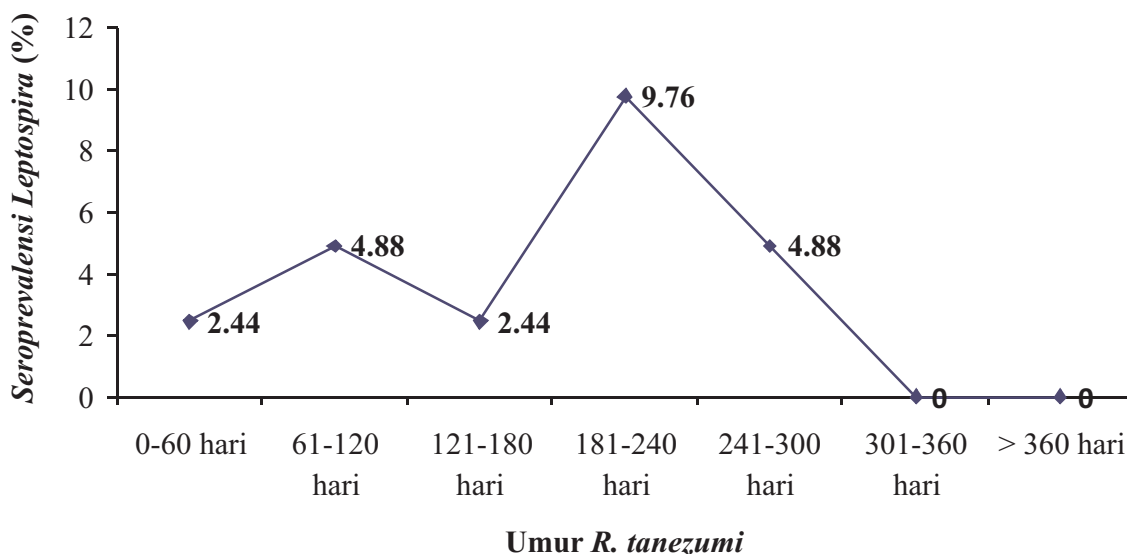
Gambar 1. Seroprevalensi *Leptospira* pada *R. norvegicus* berdasarkan umur

e. Seroprevalensi *Leptospira* pada *Rattus tanezumi* berdasarkan umur

Berdasarkan umur, seroprevalensi *Leptospira* pada *R. tanezumi* tertinggi ditemukan pada umur antara 181-240 hari (6-8 bulan) (gambar 2). Seroprevalensi *Leptospira* pada *R. tanezumi* jika didasarkan pada kategori muda dan dewasa maka seroprevalensi pada *R. tanezumi* dewasa lebih tinggi bila dibandingkan dengan *R. tanezumi* muda. *Rattus tanezumi* dikategorikan muda jika berumur kurang dari 68 hari, dewasa jika lebih dari 68 hari (Brooks dan Rowe, 1987).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan seroprevalensi *Leptospira* pada *R. norvegicus* (60%) lebih tinggi daripada seroprevalensi pada *R. tanezumi* (24,4%). Berdasarkan hasil tersebut seroprevalensi *Leptospira* pada *R. norvegicus* masuk dalam kategori tinggi, sedangkan pada *R. tanezumi* masuk dalam kategori sedang. Menurut Smith et al. (1961), seroprevalensi *Leptospira* pada tikus dikelompokkan menjadi tiga yaitu: tikus dengan seroprevalensi rendah jika angka seroprevalensi pada populasi sebesar 0 – 20%, tikus



Gambar 2. Seroprevalensi *Leptospira* pada *R. tanezumi* berdasarkan umur

dengan seroprevalensi menengah/sedang jika angka seroprevalensi pada populasi sebesar 20 – 30%, dan tikus dengan seroprevalensi tinggi jika angka seroprevalensi pada populasi >30%. Perbedaan seroprevalensi *Leptospira* antara *R. norvegicus* dengan *R. tanezumi* dimungkinkan karena perbedaan habitat dari kedua jenis tikus tersebut. Habitat *R. norvegicus* cenderung basah dan lembab sedangkan *R. tanezumi* hidup pada lingkungan yang cenderung kering. Pada lingkungan basah dan lembab *Leptospira* akan bertahan hidup lebih lama sehingga lebih berpotensi untuk menginfeksi inang baru (*R. norvegicus*). Menurut Faine et al. (1999), *Leptospira* akan bertahan selama beberapa minggu sampai beberapa bulan di perairan dan dilingkungan yang lembab. Hasil penelitian Smith et al. (1961), seroprevalensi *Leptospira* pada tikus terrestrial seperti tikus got, *R. norvegicus* dan tikus sawah, *R. argentiventer* lebih tinggi dibandingkan dengan tikus yang hidupnya arboreal seperti *R. tanezumi*.

Berdasarkan jenis kelamin seroprevalensi *Leptospira* pada *R. norvegicus* betina lebih tinggi dibandingkan dengan *R. norvegicus* jantan. Hasil ini sama seperti penelitian yang dilakukan oleh Easterbrook tahun 2007 di perkotaan Baltimore, Maryland, Amerika Serikat. Menurut Smith et al. (1961), jika seroprevalensi pada tikus betina lebih tinggi dibandingkan dengan tikus jantan dimungkinkan penularan *Leptospira* lewat hubungan seksual. Tikus jantan yang terinfeksi *Leptospira* bisa menularkan *Leptospira* ke banyak tikus betina. Berbeda dengan *R. norvegicus*, seroprevalensi *Leptospira* pada *R. tanezumi* jantan lebih tinggi daripada *R. tanezumi* betina. Hasil ini sama seperti penelitian yang dilakukan oleh Benacer pada tahun 2013 di daerah urban Kuala Lumpur, Malaysia. Menurut Mohamed et al. (2012), jika seroprevalensi *Leptospira* pada tikus jantan lebih tinggi bila dibandingkan dengan tikus betina dimungkinkan karena tikus jantan pergerakannya lebih dinamis dan lebih agresif. Hasil penelitian lainnya seperti penelitian yang dilakukan oleh Faria et al. pada tahun 2008 di daerah hiperendemik leptospirosis di Brasil menunjukkan tidak ada perbedaan seroprevalensi *Leptospira* antara tikus jantan dan betina. Hasil penelitian Agudelo pada tahun 2009 di Kolombia juga menunjukkan tidak ada korelasi antara seroprevalensi *Leptospira* dengan jenis kelamin tikus.

Berdasarkan umur tikus, seroprevalensi *Leptospira* pada tikus dewasa lebih tinggi daripada pada tikus muda. Menurut Mohamed (2012), hal tersebut disebabkan beberapa faktor yaitu; (1) Daya jelajah atau *home range*

tikus dewasa lebih luas sehingga kemungkinan untuk terpapar *Leptospira* dari lingkungan lebih besar, berbeda dengan tikus muda yang umumnya hanya tinggal di sarang. (2) Penularan *Leptospira* melalui hubungan seksual juga hanya terjadi pada tikus dewasa saja. (3) Perkelahian dan aksi saling menggigit diantara tikus dewasa dalam aktivitas mencari makan, pasangan dan mempertahankan wilayah teritorialnya. Hasil penelitian ini sama seperti hasil penelitian yang dilakukan oleh Krojgaard et al. (2009) di Copenhagen Denmark antara tahun 2006 – 2007 dan juga oleh Perez et al. (2011) di daerah hiper-endemik leptospirosis di New Caledonia. Di kedua daerah tersebut seroprevalensi *Leptospira* pada tikus dewasa lebih tinggi bila dibandingkan dengan tikus muda.

Penelitian ini mempunyai keterbatasan dalam hal metode pemeriksaan serologi tidak menggunakan MAT (*Microscopic Agglutination Test*) akan tetapi menggunakan LeptoTek Dri-Dot. MAT merupakan standar baku untuk pemeriksaan leptospirosis. Keuntungan dalam penggunaan MAT adalah dapat memberikan data tentang perkiraan serovar yang menginfeksi, sehingga dapat digunakan sebagai informasi epidemiologi yang berguna. MAT juga mempunyai sensitifitas dan spesifisitas cukup tinggi, sehingga dapat dipakai untuk mendiagnosis penyakit (WHO dan ILS, 2003; Bajani et al. 2003). Dibandingkan dengan MAT, LeptoTek Dri-Dot mempunyai sensitifitas sebesar 96% dengan *positive predictive value* 87% (Vileneni S, et al., 2007).

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa seroprevalensi *Leptospira* di daerah penelitian pada *R. norvegicus* lebih tinggi dibandingkan pada *R. tanezumi*. Seroprevalensi *Leptospira* pada *R. norvegicus* betina lebih tinggi daripada *R. norvegicus* jantan. Seroprevalensi *Leptospira* pada *R. tanezumi* jantan lebih tinggi daripada *R. tanezumi* betina. Seroprevalensi *Leptospira* pada *R. norvegicus* dan *R. tanezumi* dewasa lebih tinggi daripada *R. norvegicus* dan *R. tanezumi* muda.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian tentang faktor lingkungan yang berperan terhadap nilai prevalensi *Leptospira* pada tikus got, *R. norvegicus* dan tikus rumah, *R. tanezumi* di daerah penelitian.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan dan Kepala B2P2VRP yang telah memberikan kepercayaan untuk melakukan penelitian, Kepala Dinas Kesehatan Kota Semarang, dan Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Demak beserta staf atas ijin dan bantuan selama pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Adler B, de la Pena Moctezuma A. *Leptospira* and leptospirosis. *Vet Microbiol.* 2009; 140: 287–296.
- Agudelo FP, Londono AF, Quiroz VH, Angel JC, Moreno N, Loaiza ET, Munoz LF, Rodas JD. Prevalence of *Leptospira* spp. in urban rodents from a groceries trade center of Medellin, Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 2009; 81:906–910.
- Bajani MD, Ashford DA, Bragg SL, Wood CW, Aye T, Spiegel RA et al. Evaluation of four commercially available rapid serologic test for diagnosis of leptospirosis. *J Clin Microbiol.* 2003 ; 41: 803-809.
- Benacer D, Nursheena S, Amran F, et al. Isolation and molecular characterization of *Leptospira interrogans* and *Leptospira borgpetersenii* isolates from the urban rat populations of Kuala Lumpur, Malaysia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2013 ; 88(4) : 704–709
- Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, Levett PN, Gilman RH, Willig MR, Gotuzzo E, Vinetz JM; Peru-United States Leptospirosis Consortium. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis* 3. 2003; 757–771
- Brooks JE dan Rowe FP. *Comensal rodents control, vector control series, rodents (training and information guide)*. Vector Biology and Control Division, WHO. Geneva. 1987.
- Carter ME, Cordes DO, Leptospirosis and other infections of *Rattus rattus* and *Rattus norvegicus*. *N Z Vet J.* 1980; 28: 45–50.
- Easterbrook J D, Kaplan JB, Vanasco NB, et al. A Survey of zoonotic pathogens carried by Norway Rats in Baltimore, Maryland, USA. *Epidemiol. Infect.* 2007; 135 : 1192–1199.
- Faine S, Adler B , Bolin C , Perolat P. *Leptospira and Leptospirosis*. Melbourne, Australia : MediSci
- Vijayachari P, Sugunan AP, Shriram AN 2008: Leptospirosis: an emerging global public health problem. *J Biosci.*, 1999; 33: 557-569.
- Faria MT, Calderwood MS, Athanazio DA, McBride AJA. Carriage of *Leptospira interrogans* among domestic rats from an urban setting highly endemic for leptospirosis in Brazil. *Acta Trop.* 2008 ; 108:1–5.
- Hardy AR, Quy RJ & Huson LW. Estimation of age in the Norway rat (*Rattus norvegicus* Berkenhaut) from the weight of the eyelens. *J. Appl. Ecol.* 1983; 20: 97–102.
- Krojgaard LH, Villumsen S, Markussen MDK, Jensen JS, Leirs H, Heiberg AC. High prevalence of *Leptospira* spp. in sewer rats (*Rattus norvegicus*). *Epidemiol Infect.* 2009; 137: 1586–1592.
- Lord, DR. The lens as an indicator of age in cotton-tail rabbits. *Journal of Wildlife Management* 1959; 23: 358-360
- Mohamed-Hassan SN, Bahaman AR, Mutalib AR, Khairani-Bejo S. Prevalence of pathogenic leptospires in rats from selected locations in peninsular Malaysia. *Res J Anim Sci.* 2012 ; 6: 12–25.
- Perez J, Brescia F, Becam J, Mauron C, Goarant C. Rodent abundance dynamics and leptospirosis carriage in an area of hyperendemicity in New Caledonia. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5: e1361.
- Tanikawa. An eye-lens Weight Curve for determining age in black rats, *Rattus rattus*. *J. mamm. Soc. Japan.* 1993; 18(1): 49-51
- Ristiyanto, Farida DH, Damar TB, Bambang H. *Penyakit tular rodensia*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 2012.
- Simanjuntak GM, Koesharjono dan Hardjoutomo. *Leptospirosis di daerah transmigrasi Kuala Cinaku Propinsi Riau Tahun 1981*. Penyakit Hewan XVII1(31) Semester I. 1986.: 6-13
- Tucunduva MT, Athanazio DA, Goncalves Ramos EA et al. Morphological alterations in the kidney of rats with natural and experimental *Leptospira* infection. *J Comp Pathol.* 2007; 137(4):231-238.
- Zitek K, & Benes C. Longitudinal epidemiology of leptospirosis in the Czech Republic (1963-2003). *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2005 : 54: 21-26.
- Vijayachari P, Sugunan AP, Shriram AN. Leptospirosis: an emerging global public health problem. *J Biosci.* Nov. 2008; 33(4):557-69.
- Velineni S, Asuthkar S, Umabala P, Lakshmi V, Sritharan M. Serological evaluation of leptospirosis in

Hyderabad, Andra Pradesh: A retrospective hospital-based study. Indian Journal of Medical Microbiology. 2007; 25 (1): 24 – 27.

WHO & ILS. Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, Malta.2003.